

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE DE L'INDUSTRIE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

 1988
 SEP 1

RECEIVED

88 SEP -7 AM 8:38

GROUP 180

COPIE OFFICIELLE

LE DOCUMENT CI-ANNEXÉ EST LA COPIE CERTIFIÉE CONFORME,
 D'UNE DEMANDE DE TITRE DE PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
 ENREGISTRÉE A L'INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ
 INDUSTRIELLE.

PUBLIÉ

LE TITRE A ÉTÉ ~~REJETÉ~~ LE 22 Juillet 1983
 Le dossier est rejeté du 29 avril 1985.

ÉTABLIE A PARIS, LE... 2.3. MARS 1988

Pour le Chef de Service
 Directeur de l'Institut national
 de la propriété industrielle

A handwritten signature in dark ink, appearing to read "Y. Campenon".

Y. CAMPENON

DEMANDE DE
(voir case cochée)

- ☐ BREVET D'INVENTION ☐ CERTIFICAT D'ADDITION
- ☒ CERTIFICAT D'UTILITÉ ☐ DEMANDE DIVISIONNAIRE
- ☐ TRANSFORMATION D'UNE DEMANDE DE BREVET EUROPÉEN.

DATE DE
REMISE
DES PIÈCES

15 JAN 1982

DATE DE
DÉPÔTN° D'ENREGISTREMENT
NATIONAL

82 00621

15-0 182

CODE POSTAL DU LIEU DE DÉPÔT

DÉPÔT FISCAL 99

DUPLICATA DE LA REQUÊTE

RATTACHEMENT DE LA DEMANDE DIVISIONNAIRE OU DE LA TRANSFORMATION
NATURE, N° ET DATE DE LA DEMANDE INITIALE

NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE

CABINET PLASSERAUD,
84, rue d'Amsterdam,
75009 - PARIS -RÉFÉRENCE DU DEMANDEUR
OU DU MANDATAIRE:

CHP.MTB-0004-82-01

DATE DU POUVOIR GÉNÉRAL ET NUMÉRO
DE TÉLÉPHONE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE:

255-33-87

1) TITRE DE L'INVENTION

"Trisaccharides à structure D-glucosamine, acide D-glucuronique,
D-glucosamine et leur préparation"

NOMBRE DE
REVENDEMENTS:

2) DEMANDEUR: NOM ET PRÉNOMS OU DÉNOMINATION ET FORME JURIDIQUE:

2

N° SIRENE, LE CAS ÉCHÉANT

CHOAY s.a.

3) NATIONALITÉ: française

4) ADRESSE COMPLÈTE:

48, avenue Théophile Gautier, 76782 PARIS CEDEX 16

PAYS

5) INVENTEUR

LE DEMANDEUR EST
L'INVENTEUR NON6) LE DEMANDEUR REQUIERT QUE
L'ÉTABLISSEMENT DE L'AVIS
DOCUMENTAIRE SOIT DIFFÉRÉ

OUI

LE DEMANDEUR REQUIERT LE
BÉNÉFICE DU PAIEMENT ÉCHELONNÉ
DE LA TAXE D'AVIS DOCUMENTAIRE

NON

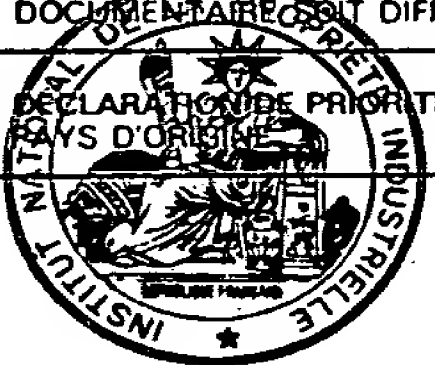
LE DEMANDEUR BÉNÉFICIE
POUR L'INVENTION CONCERNÉE, D'UNE DÉCISION
DE RÉDUCTION DES TAUX DE TAXE

NON

7) DÉCLARATION DE PRIORITÉ

DATE DE DÉPÔT

NUMÉRO



Certificat d'Utilité résultant de la transformation
de la demande de Brevet déposée le 15 janv 1982
(Article 20 de la Loi du 2 Janvier 1968 modifiée et articles 42 et 43
du Décret du 19 Septembre 1979)

8) RATTACHEMENT DU CERTIFICAT D'ADDITION:

NATURE DE LA DEMANDE PRINCIPALE:

N°

DATE DE DÉPÔT:

ADDITIONS ANTERIEURES: 1^{er} N°2^e N°3^e N°4^e N°SIGNATURE
DU DEMANDEUR
OU
DE SON
MANDATAIRE

SIGNATURE DU PROPOSÉ À LA RÉCEPTION

SIGNATURE APRES ENREGISTREMENT
DE LA DEMANDE À L'IN.P.I.

1) PUBLICATION 2 519 987
2) REGISTREMENT NATIONAL 82 00621
NATURE DU DOCUMENT 41 DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION
3) DATE DE DEPOT 15 JANVIER 1982
4) DATE DE DELIVRANCE 29 JU 22/07/83
5) ECRITURE DELIVRANCE NP DU
6) CLASSIFICATION INTERNATIONALE CLASST 3
C07H 7/02 ;

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIETE INDUSTRIELLE
PAGE DE GARDE
CODE POSTAL DU LIEU DE DEPOT
DEPOT POSTAL - 99
RATTACHEMENT DE LA DEMANDE DIVISIONNAIRE OU DE LA TRANSFORMATION
NATURE, N° ET DATE DE LA DEMANDE INITIALE:
NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE

CERTIFICAT D'UTILITE
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL 82 00621

CABINET PLASSERAUD,
84, rue d'Amsterdam,
75009 - PARIS -

CHEQUE N° 0004-82-01 255-33-87

1) TITRE DE L'INVENTION (54)
"Trisaccharides à structure D-glucosamine, acide D-glucuronique,
D-glucosamine et leur préparation"

2) DEMANDEUR: NOM ET PRENOMS OU DENOMINATION ET FORME JURIDIQUE: (71)
CHOAY s.a.

4) ADRESSE COMPLETE: 48, avenue Théophile Gautier, 76782 PARIS CEDEX 16
PAYS

5) INVENTEUR (72)
LE DEMANDEUR EST L'INVENTEUR: NON

7) DECLARATION DE PRIORITE (30)
DATE DE DEPOT (32)
NUMERO (33)
Certificat d'Utilité résultant de la transformation
de la demande de Brevet déposée le 15 JANV 1982
(Article 20 de la Loi du 2 Janvier 1968 modifiée et articles 42 et 43
du Décret du 19 Septembre 1979)

8) RATTACHEMENT DU CERTIFICAT D'ADDITION:
NATURE DE LA DEMANDE PRINCIPALE: N° DATE DE DEPOT:
ADDITIONS ANTERIEURES: 1° N° 2° N° 3° N° 4° N°

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

DIVISION ADMINISTRATIVE DES BREVETS

DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

N° d'enregistrement national

8 200 621

Titre de l'invention :

"Trisaccharides à structure D-glucosamine,
acide D-glucuronique, D-glucosamine et leur
préparation"

~~XX (s) assigné (s) X~~

La Demanderesse CHOAY s.a.

représentée par son mandataire CABINET PLASSERAUD,
84, rue d'Amsterdam,
75009 - PARIS -

désigne (nt) en tant qu'inventeur (s) (nom, prénoms, adresse)

Jean CHOAY,
130, rue du Faubourg St. Honoré,
75002 - PARIS -

Jean-Claude JACQUINET,
1, allée André Gide,
45100 - ORLEANS - LA SOURCE -

Maurice PETITOU,
27, rue du Javelot,
Appt. 201,
75645 - PARIS CEDEX 13 -

Pierre SINAY,
5, rue Jacques Monot,
45100 - ORLEANS -

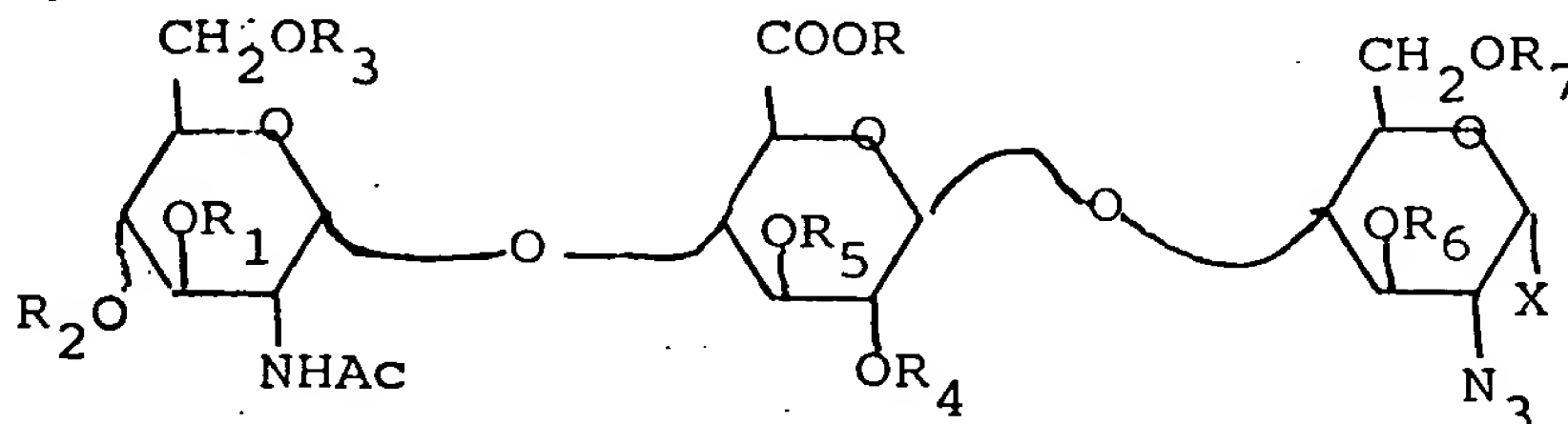


Date et 15 janvier 1982
signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire

[Signature]

"Trisaccharides à structure D-glucosamine, acide D-glucuronique, D-glucosamine et leur préparation".

L'invention a pour objet de nouveaux trisaccharides formés d'un enchaînement de monosaccharides à structure D-glucosamine, acide D-glucuronique, D-glucosamine, du type :

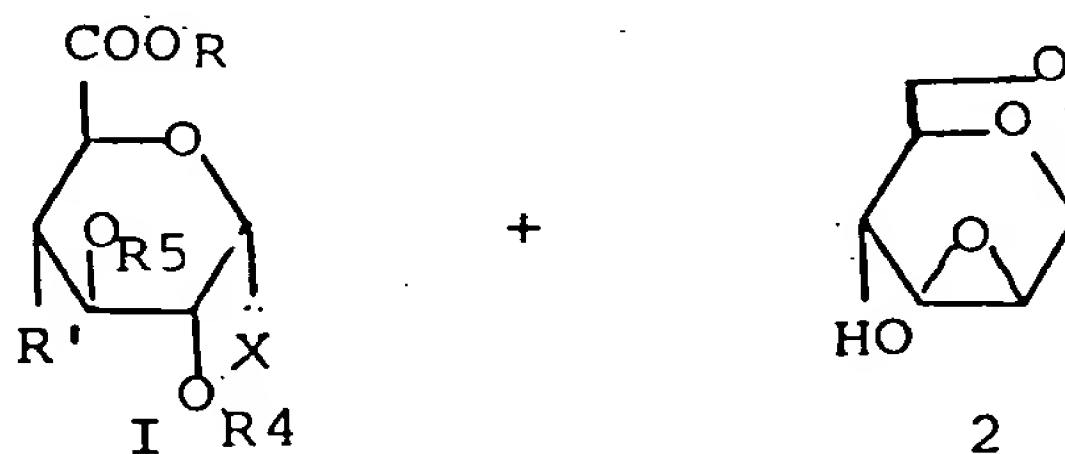


Dans la formule ci-dessus, Ac représente un groupe acétyle, R un groupe alcoyle, X, un groupe réactif, en particulier un atome d'halogène et R_1 à R_7 , des groupes de blocage.

Dans ce qui suit, le motif D-glucosamine en début de chaîne sera appelé motif terminal non réducteur, le motif acide D-glucuronique, motif intermédiaire et le motif D-glucosamine en bout de chaîne, le motif terminal réducteur.

L'invention concerne plus spécialement les trisaccharides dans lesquels au moins l'un des substituants suivants présentent les significations ci-après, à savoir, R représente un groupe méthyle, X un atome de brome, R_1 , R_2 , R_4 et R_5 représentent un groupe benzyle et R_3 , R_6 et R_7 un groupe acétyle.

Ces trisaccharides sont préparés à partir du monosaccharide 2, illustré sur la figure 1, et du monosaccharide I, répondant aux structures suivantes :



dans lesquelles les substituants présentent les significations données ci-dessus. Dans la structure I, R représente plus spécialement un groupe méthyle, X, un atome de brome, R_4 et R_5 représentent tous deux un groupe benzyle et R' un



Dans le cadre de la synthèse trisaccharidique plus spécialement envisagée selon l'invention, R' représente avantageusement un groupe acétyle, mais pourra présenter, par exemple, un groupe benzyle aux fins de synthèse d'oligosaccharides différents, notamment dans le cas où le motif appelé ci-dessus intermédiaire se trouve en fait en début de chaîne.

On remarquera l'intérêt d'utiliser, selon l'invention, le monosaccharide 2.

Dans ce monosaccharide, les groupes -OH sont, en effet, bloqués de telle manière qu'ils ne peuvent réagir dans les conditions de la synthèse osidique. Ainsi, les groupes -OH en positions 2 et 3 et en positions 1 et 6 sont bloqués sous forme d'anhydro respectivement 2,3-époxyde et 1,6-anhydro. blocages, on dispose tout au long de la synthèse osidique d'un monosaccharide constituant potentiellement un motif de structure D-glucosamine mais n'interférant pas avec les réactions mises en jeu dans la synthèse, laissant toute liberté d'effectuer les réactions désirées sur les groupements des autres monosaccharides mis en oeuvre.

En particulier, il sera ainsi possible de transformer le motif D-glucosamine terminal non réducteur (répondant à la structure du dérivé 5 donnée dans la figure I) en N-acétyl-glucosamine, sans que le motif réducteur ne s'en trouve affecté. On remarquera, en outre, que l'ouverture de la fonction époxyde du monosaccharide 2 permet, selon un aspect de grand intérêt, l'introduction d'un groupe azide qui pourra être aisément transformé en groupe N-sulfate-glucosamine conduisant à un motif du type de ceux des chaînes d'héparine.



Ce groupe N_3 présente, de plus, l'avantage de permettre l'obtention de la stéréochimie désirée lorsqu'on utilise les trisaccharides de l'invention pour la synthèse d'oligosaccharides à chaînes plus longues.

Le disaccharide 4, formé par réaction des monosaccharides 1 et 2, suivie de déacétylation pour libérer le groupe -OH en position 4 du motif acide D-glucuronique, est ensuite soumis à une réaction avec un monosaccharide à structure D-glucosamine (voir dérivé 5 sur la figure 1).

Ce motif possède en position 2 un groupe azide qui sera transformé en groupe N-acétyle.

Lorsque les groupements souhaités ont été introduits sur les deux premiers motifs de la chaîne trisaccharidique, on soumet le troisième motif à un traitement permettant l'introduction à son tour des substituants désirés. A cet effet, on procède d'abord avantageusement à l'ouverture de la fonction époxyde à l'aide d'azide de sodium, afin d'introduire à cette occasion un groupe $-N_3$ en position 2, puis à l'ouverture du pont 1,6-anhydro, notamment, par acétolyse.

Aux fins d'utilisation du trisaccharide formé en synthèse osidique, il est souhaitable d'introduire un groupe réactif en position 1 du motif terminal réducteur. A cet effet, on fait réagir avantageusement le trisaccharide formé avec un composé tel qu'un halogène notamment un sel de brome ce qui permet d'introduire un atome de brome réactif en position 1.

L'invention vise également en tant que produits nouveaux les divers oligosaccharides obtenus au cours du procédé de l'invention.

Les composés de l'invention présentent notamment un grand intérêt en tant qu'intermédiaires en synthèse osidique, plus spécialement pour la synthèse d'oligosaccharides constitutifs de l'héparine ou de l'héparan sulfate.

Ils permettent ainsi d'obtenir par voie de synthèse des oligosaccharides à activité anti-Xa (Yin-Wessler) supérieure à celle de l'héparine et à activité USP, plus faible que celle de l'héparine. Les tests Yin-Wessler et USP sont rappelés notamment dans le domaine du brevet FR 78 31357 du 6 novembre 1978 au nom de la demanderesse.

Les principales étapes et les produits intermédiaires obtenus, qui font donc également partie de l'invention - sont illustrés dans les figures 1 et 2. Les formules chimiques des composés de départ, des composés intermédiaires successivement obtenus et des composés finaux, données dans ces figures portent des références numériques, également utilisées pour désigner les mêmes produits dans la description.



Les abréviations utilisées dans ces formules ont les significations suivantes :

Ac représente un groupe acétyle,

Me un groupe méthyle et

Bn un groupe benzyle.

A - Synthèse du dérivé 3 -

On effectue cette synthèse à partir des dérivés 1 et 2 .

Une solution du dérivé 2 (432 mg, 3 mmoles) dans le dichlorométhane (10 ml) est agitée à 0°C en présence de tamis moléculaire 4 Å (0,5 g), de drierite (1 g) et de carbonate d'argent fraîchement préparé (0,42 g). Après refroidissement à 0°C, on ajoute, goutte à goutte, une solution du composé 1 (490 mg, 1 mmole) dans le dichlorométhane (6 ml). La réaction dure deux heures, le mélange réactionnel est ensuite filtré. Après évaporation à sec et chromatographie sur gel de silice du résidu, (solvant : acétate d'éthyle/chloroforme, 1/6, v/v), on obtient le dérivé 3 (285 mg; 51%).

La structure du dérivé 3 est confirmée par son analyse élémentaire et son spectre de RMN. Pouvoir rotatoire: $[\alpha]_D^{20} = 39^\circ$; chloroforme; PF = 156-159°C.

B - Synthèse du dérivé 4 -

A une solution de 3 (260 mg) dans le méthanol (25 ml) on ajoute, à 0°C, une solution de soude 1 N (25 ml). Après une heure, le mélange est acidifié par addition d'acide chlorhydrique 1 N (30 ml). Le produit est extrait au chloroforme. Après évaporation, le résidu est cristallisé dans un mélange acétate d'éthyle/hexane. On obtient 167 mg (rendement 70%) du dérivé 4.

Pouvoir rotatoire: $[\alpha]_D^{20} = -31^\circ$; chloroforme, PF (169-70°C). L'analyse trouvée est correcte. La structure du dérivé 4 est de plus confirmée par son spectre RMN.



C - Synthèse du dérivé 6 -

On réalise cette synthèse à partir des dérivés 4 et 5.

5 A une solution de 5 (300 mg) et 4 (155 mg) dans le dichlorométhane (5ml), on ajoute successivement du tamis de 4 Å en poudre (500 mg), puis de la collidine (100 µl) et du triflante d'argent. Après 15 minutes, la solution est diluée avec du dichlorométhane (50 ml), filtrée, lavée avec successivement de l'eau, une solution à 10% de sulfate acide de potassium et de l'eau. Après séchage et concentration, le résidu est chromatographié sur gel de silice dans un mélange acétate d'éthyle/chloroforme (1/10, v/v). On obtient ainsi le dérivé 6 sous forme de mousse blanche.

15 Ce dérivé 6 est caractérisé par son analyse élémentaire, son spectre de RMN et son pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D^{20} = + 25^\circ$; chloroforme).

D - Synthèse du dérivé 7 - (à partir du dérivé 6)

20 A une solution du dérivé 6 (10 mg) dans un mélange DMF/éthanol (1/1 ; 1 ml), on ajoute du catalyseur Pd/CaCO₃ à 5% (5mg). La suspension est agitée sous une pression d'hydrogène de 10⁵ Pa pendant 96 heures.

Après filtration du catalyseur et évaporation, le résidu est dissous dans du méthanol puis acétylé par addition d'une goutte d'anhydride acétique. On obtient quantitativement le dérivé 7.

30 Le dérivé 7 est caractérisé par son spectre RMN, son analyse élémentaire, son pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{20} = + 35,5^\circ$; chloroforme. PF : 147-149°C.

E - Synthèse du dérivé 8 - (à partir du dérivé 7)

35 Le dérivé 7 est tout d'abord saponifié comme indiqué pour la synthèse du dérivé 4 et ce, afin d'éliminer le groupement acyle en position 6 du motif terminal non réducteur et le groupement méthyl-ester en position du motif intermédiaire.



5 Après extraction, le résidu est dissous dans du DMF et chauffé à 120°C., en présence d'azide de sodium, pendant 48 heures. Après évaporation, extraction par le chloroforme, lavage par HCl, 0,1 N, par l'eau, séchage et évaporation du solvant, on obtient un résidu qui est traité par du diazométhane puis acétylé (pyridine anhydride acétique), donnant ainsi le composé 8.

F - Synthèse du dérivé 9 - (à partir du dérivé 8)

10 Le composé 8 est acétolysé dans les conditions habituelles (anhydride acétique, acide sulfurique) à - 20°C. Après traitement du mélange réactionnel on obtient le dérivé 9.

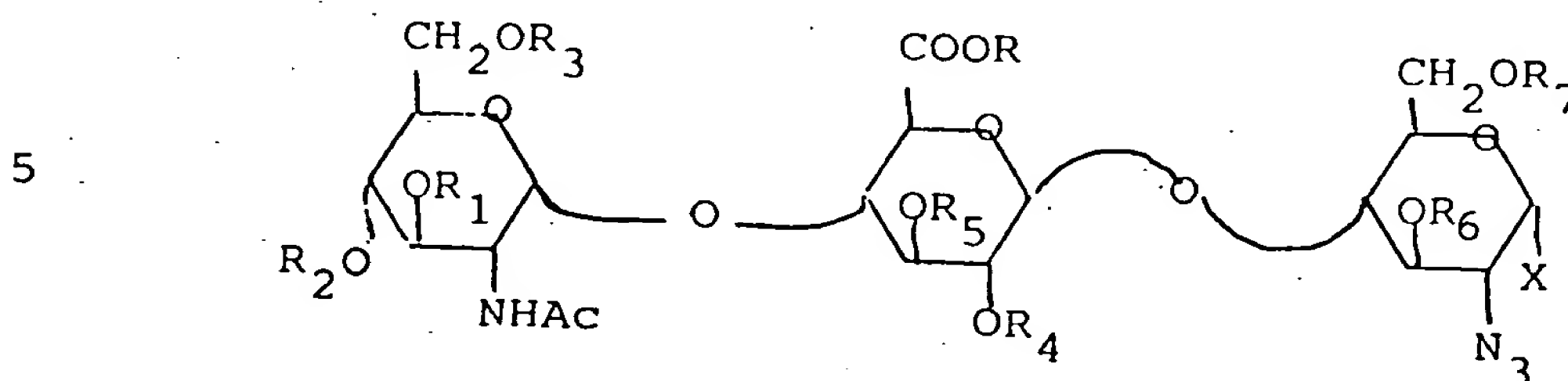
G - Synthèse du dérivé 10 - (à partir du dérivé 9)

15 Le traitement du dérivé 9 par le tétrabromure de titane dans une solution de dichlorométhane et d'acétate d'éthyle conduit à l'halogène 10 dont la structure est confirmée par son spectre RMN. Son analyse élémentaire est correcte.



REVENDICATIONS

1. Trisaccharides caractérisés en ce qu'ils sont formés d'un enchaînement de motifs à structure D-glucosamine, acide D-glucuronique, D-glucosamine du type :

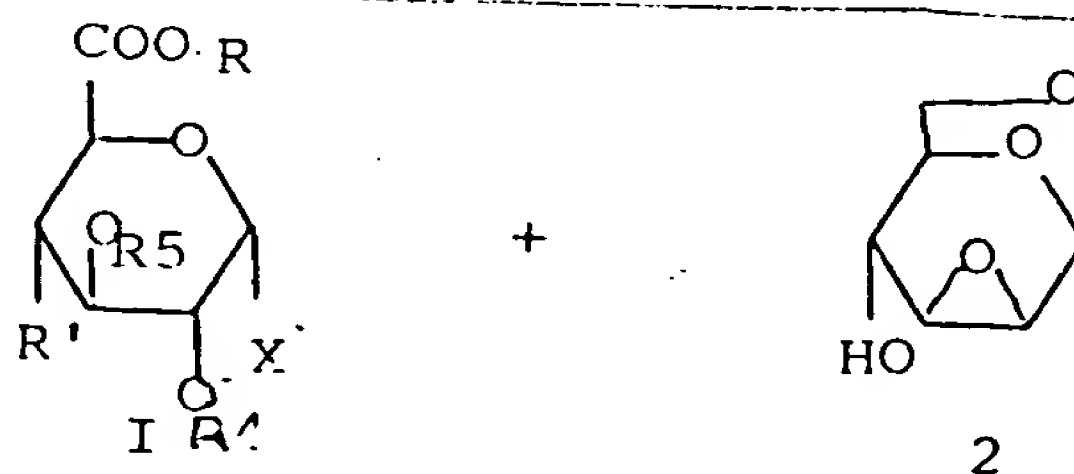


dans lequel Ac représente un groupe acétyle, R un groupe alcoyle, de préférence un groupe méthyle, X, un groupe réactif et, en particulier, un atome d'halogène, de préférence de brome et R_1 à R_7 un groupe de blocage, R_1 , R_2 , R_4 et R_5 , représentent de préférence un groupe benzyle et R_3 , R_6 et R_7 , un groupe acétyle.

2. Procédé de préparation de trisaccharides selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comporte

- la réaction de deux monosaccharides de structures

15 I et 2 respectives



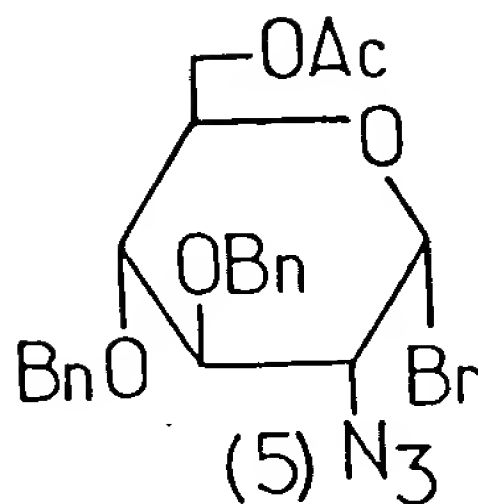
les substituants de la structure I présentant les significations données dans la revendication 1, R' représentant un groupement protecteur, plus spécialement un groupement acétyle ;

- la saponification du disaccharide formé pour libérer le groupe -OH en position 4 du motif acide D-glucuronique ;

- la réaction du disaccharide ainsi obtenu avec

25 un monosaccharide de structure D-glucosamine





- la transformation du groupe azide en position 2 du motif terminal non réducteur en groupe-NHAC,
 - suivie de l'ouverture de la fonction époxyde
- 5 du motif terminal réducteur
- avec introduction d'un groupe $-N_3$ à l'aide d'azide de sodium, puis de l'ouverture du pont 1,6-anhydro de ce même motif par acétalyse et introduction d'un groupement réactif en position 1, par exemple, d'un atome de
- 10 brome, à l'aide d'un sel de brome.



Planche I

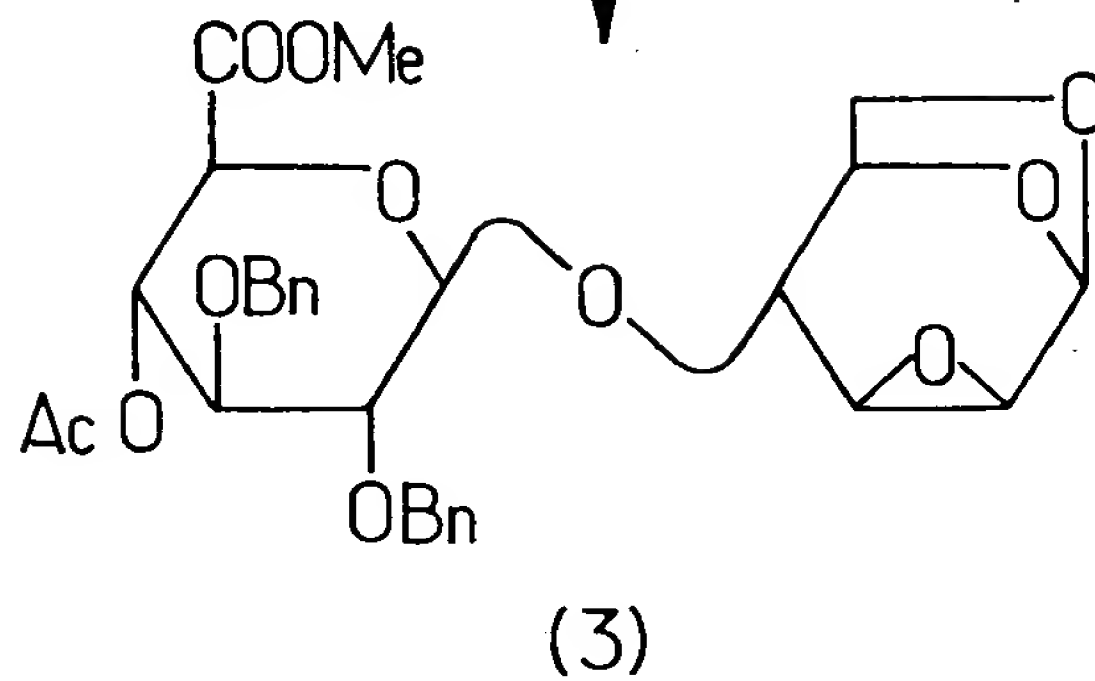
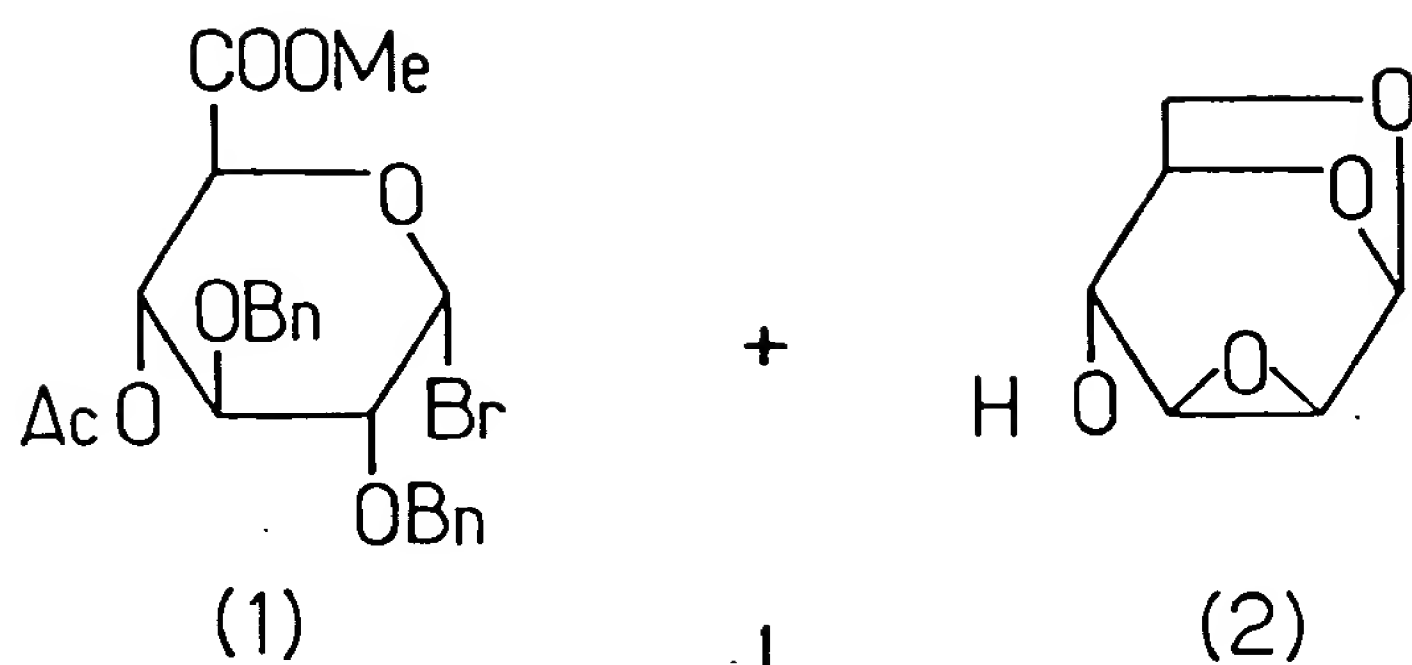


Fig.1.

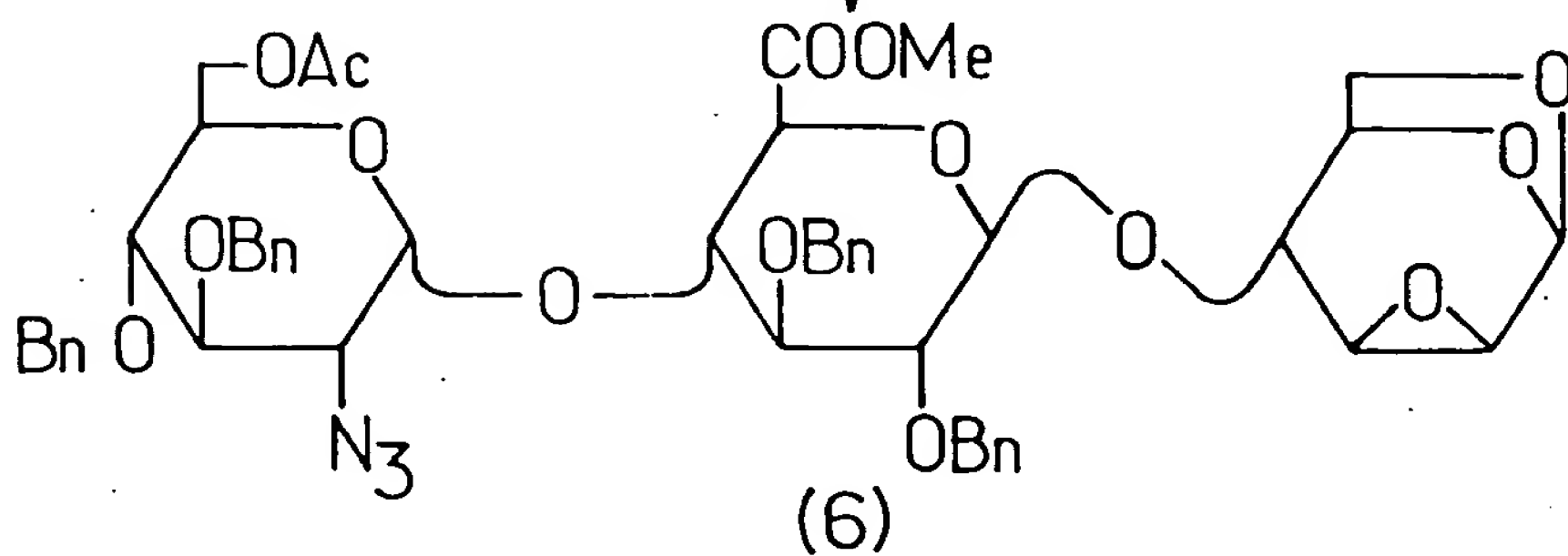
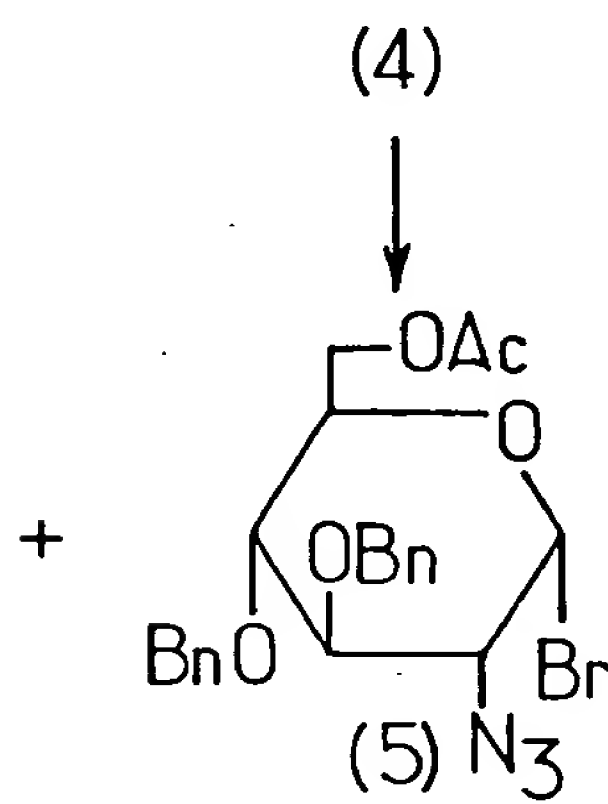
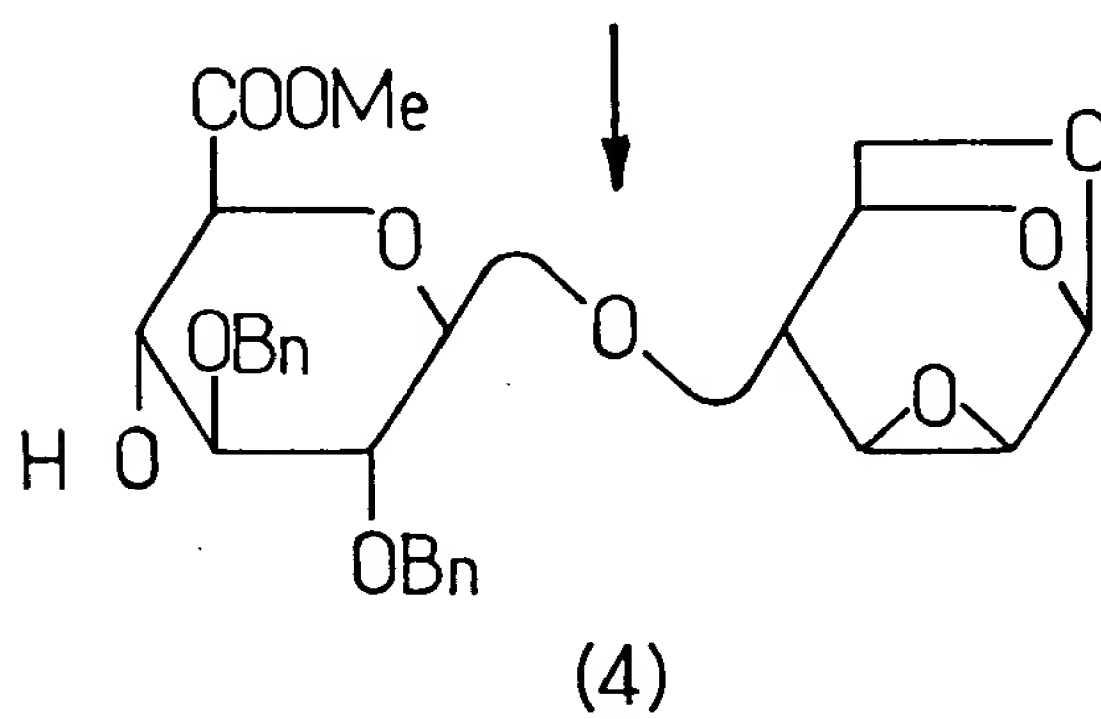
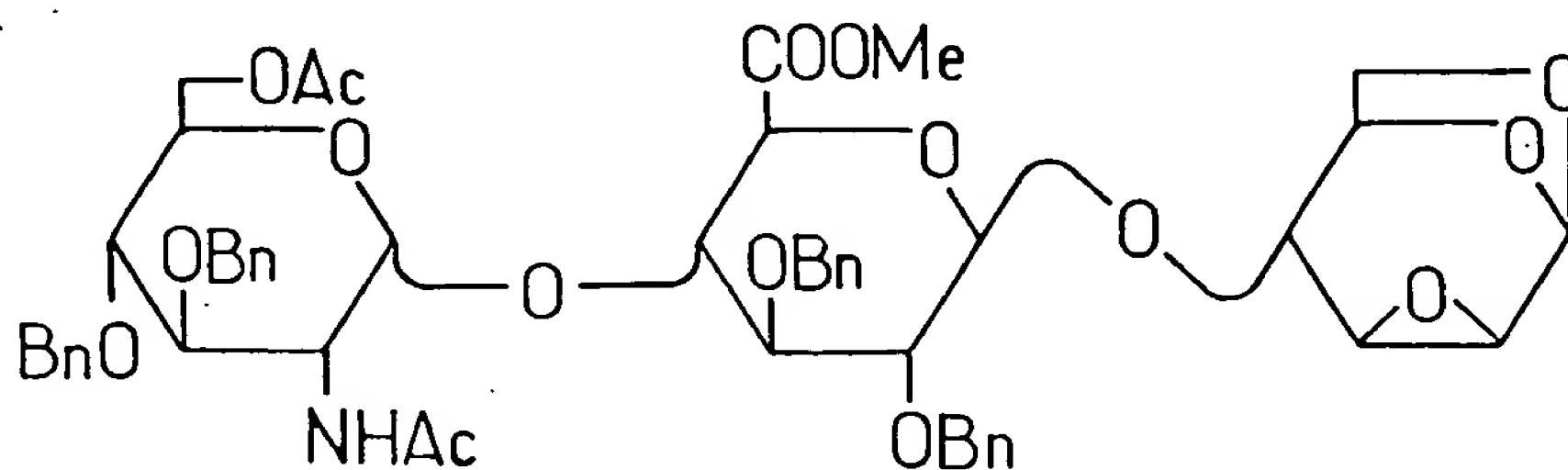
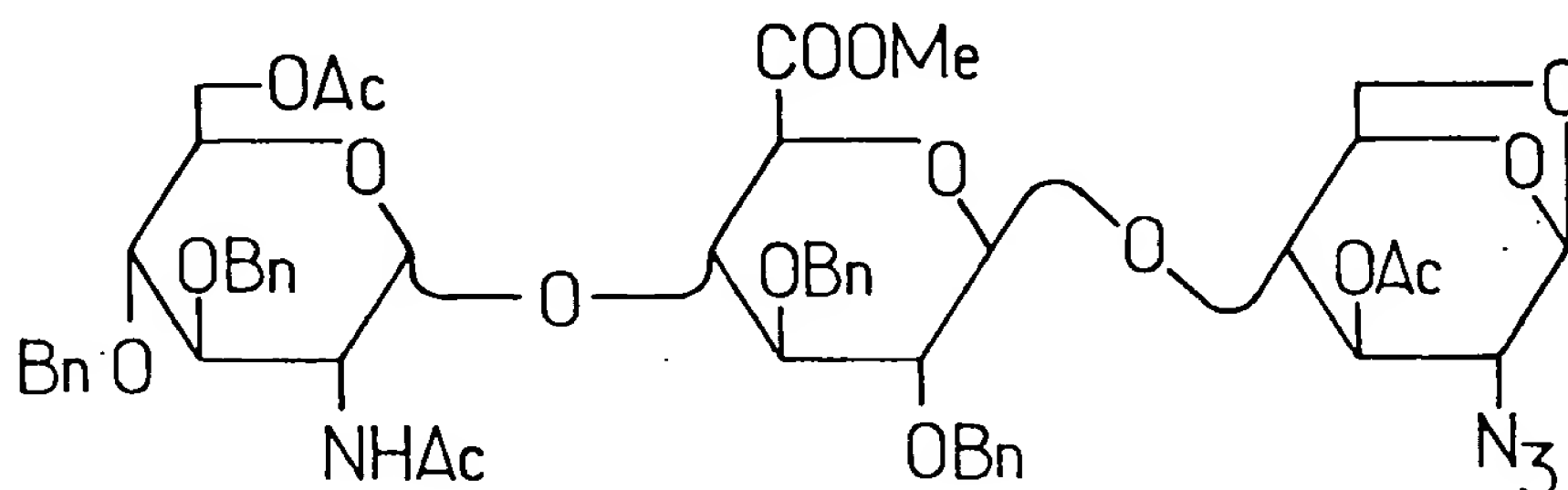


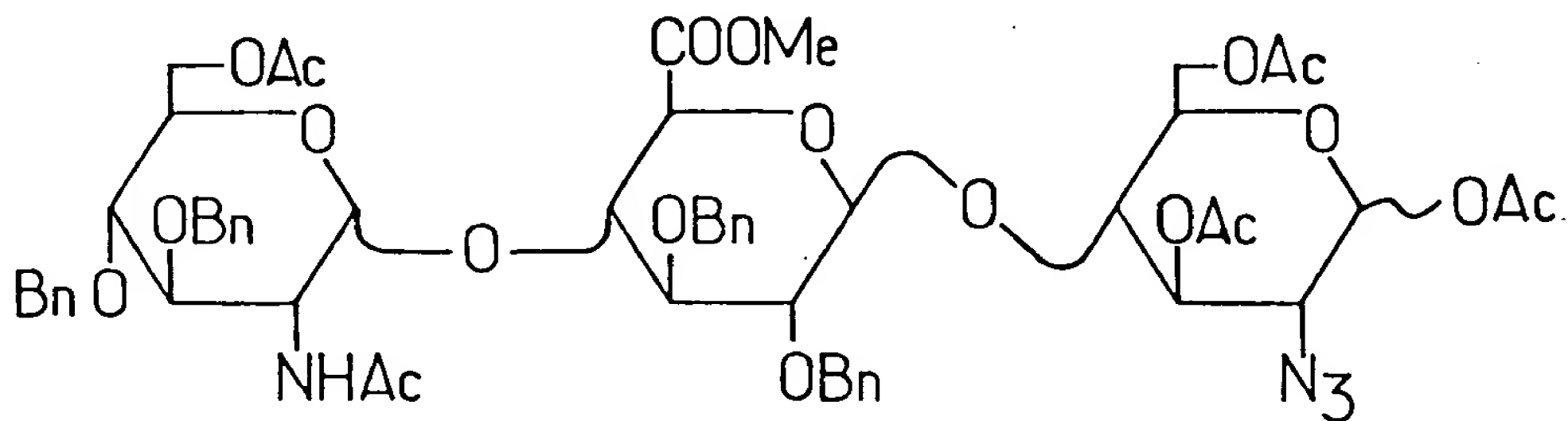
Planche II



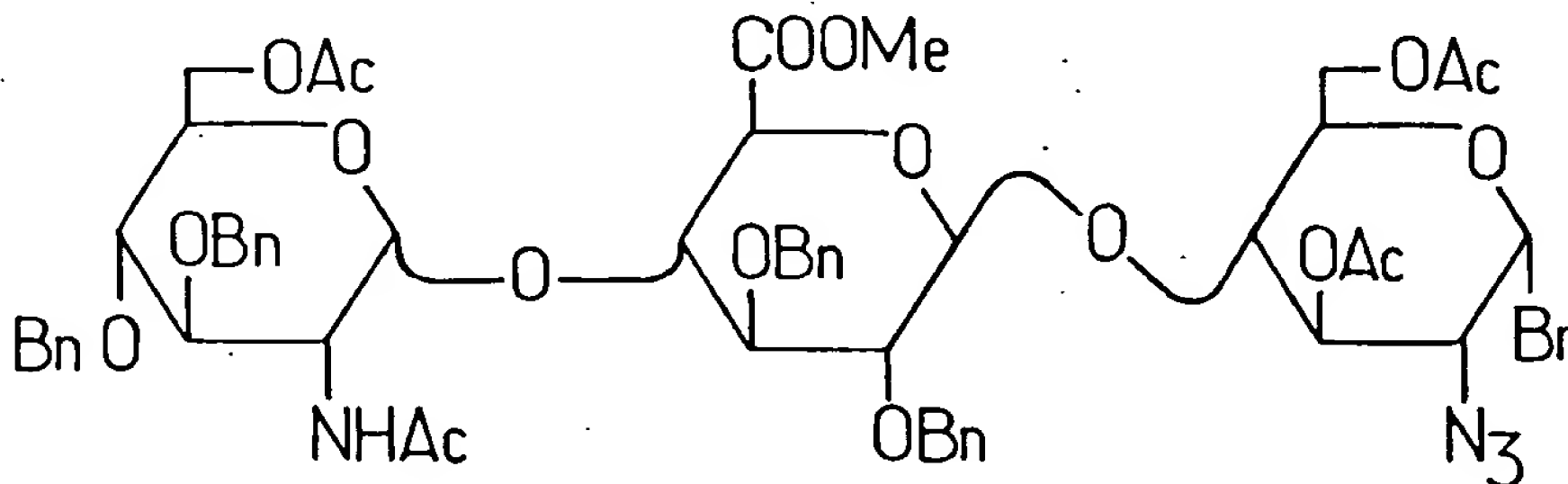
(7)



(8)



(9)



(10)

Fig.2.

